

鹅观草与大鹅观草杂种的细胞遗传学及形态学研究 Q999.714.2

Q321.6

张新全¹, 杨俊良², 颜济², 郑有良², 伍碧华²

(1. 四川农业大学草业科学系, 四川雅安 625014; 2. 四川农业大学小麦研究所, 四川都江堰 611830)

摘要: 大鹅观草 (*Roegneria grandis* Keng) 是分布于我国陕西的一种多年生四倍体植物。为了探索大鹅观草与鹅观草 (*Roegneria kamoji* Ohwi) 间的物种生物学关系, 通过对其进行远缘杂交, 幼胚离体培养, 合成了远缘杂种; 并对亲本及杂种 F₁ 代花粉母细胞减数分裂中期 I 染色体配对行为及形态学进行了研究。结果表明杂种 F₁ 减数分裂染色体配对平均构型为: *R. kamoji* × *R. grandis* 10.26 I + 12.37 II (c-值 = 0.74)。大鹅观草与鹅观草所含的 SY 染色体组间存在较大的同源分化; 杂种穗部特征大多数介于双亲之间。

关键词: 大鹅观草; 鹅观草; 种间杂种; 减数分裂; 形态学

中图分类号: Q321.6 文献标识码: A

Cytogenetic and morphological studies of hybrids between *Roegneria kamoji* and *Roegneria grandis* (Poaceae: Triticeae)

ZHANG Xin-quan¹, YANG Jun-liang², YEN Chi², ZHENG You-liang², WU Bi-hua²

(1. Forage and Grass Department, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China; 2. Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan 611830, China)

Abstract: *Roegneria grandis* Keng is tetraploid perennial grass of tribe Triticeae native to China. *Roegneria kamoji* Ohwi and *Roegneria grandis* were crossed, for the study of their biosystematic relationships, with the aid of embryo rescue. Interspecific hybridizations were easy to be performed from the combinations. Chromosome pairing behaviour at metaphase I and morphological characteristics in the parents and hybrids were studied. Meiotic configurations were 10.26 I + 12.37 II (c-value = 0.74) for *R. kamoji* × *R. grandis*. It can be concluded that considerable differentiation of the SY genome occurred between *R. grandis* and *R. kamoji*. Most of the hybrid morphology was intermediate between the parents.

Key words: Interspecific hybrids; meiosis; morphology; *Roegneria grandis*; *Roegneria kamoji*

收稿日期: 1999-02-13

作者简介: 张新全 (1965-), 男, 博士, 副教授, 从事小麦族生物系统学研究。

基金项目: 国家自然科学基金 (3861109), 四川省教委资助项目。

小麦族(*Triticeae* Dumort.)种, 属间远缘杂交不仅广泛用于导入外源有益基因改良牧草和麦类作物品种, 而且可用于进行种、属间杂种 F_1 代减数分裂中期 I 染色体配对行为分析, 也被普遍用来确定物种的染色体组组成以及物种间染色体同源程度的研究, 进而探索这些物种间的系统进化关系^[1,2]。

鹅观草属 (*Roegneria* C. Koch) 是小麦族中种类最多的一个属, 全世界约有 120 种, 主要分布于北半球的温寒地带。我国现知有 70 余种, 主要分布于西北、西南和华北地区^[3]。鹅观草 (*Roegneria kamoji* Ohwi) 广泛分布于中国、日本和朝鲜, 含 SSHHY 染色体组^[4-7]。大鹅观草是中国特有的小麦族禾草, 分布于我国陕西省, 是一种多年生四倍体植物 ($2n=4x=28$), 染色体组组成为 SSSY^[8]。

Yang J. L. 等^[9]对中国小麦族的生态地理分布的研究表明在温带阔叶林区、温带草原区、青藏高原冷植被区所分布的鹅观草属物种染色体组组成是有差异的。除染色体组在不同地理植被区域发生了分化外, 也可能与其供体种的不同有关。

鹅观草和大鹅观草具有优良的抗病和抗逆特性, 也是优良的牧草。Wan Y. F. 等^[10,11]的研究结果表明其对赤霉病具有高抗的特性, 而在小麦中却缺乏这种抗性。在现代植物育种中应用染色体工程方法, 将这些特性转移到小麦、大麦中是完全可能的。但要利用这些物种, 探讨它们染色体组间的关系, 起源和分化机制等又是重要的基础。本文通过双亲和杂种 F_1 形态学比较, 减数分裂染色体配对行为分析来探讨这两种植物的物种生物学关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试材料大鹅观草和鹅观草由颜济、杨俊良等采自各地并引种栽培于四川农业大学小麦研究所。表 1 中列出用于杂交试验的各物种的染色体数目、染色体组成及其来源。

1.2 远缘杂交方法

鹅观草作为母本, 进行人工去雄、套袋, 2~3 d 后分别授以大鹅观草的成熟花粉, 授粉 14 d 以后取部分杂种幼胚培养, 胚配幼苗于低温处理越冬, 统计杂交结实率, 收获杂种种于干燥保存。

1.3 细胞学制片及减数分裂观察

杂种及亲本孕穗期, 取减数分裂盛期的幼穗用卡诺氏液 II (乙醇: 氯仿: 冰醋酸=6:3:1) 固定, 24 h 后转入 75% 酒精, 贮存在 4℃ 条件下备用, 用醋酸洋红染色压片, 观察并统计杂种 F_1 及亲本花粉母细胞 (PMC) 减数分裂中期 I 染色体配对行为。c-值 (c-value) 是指平均染色体臂配对频率, 变化于 0~1 之间。c-值的计算参照 Kimber 等^[12]的方法。亲本及杂种 F_1 的花粉用 I_2 -KI 溶液染色, 以检查其可育性。

1.4 形态学测定

对杂种和双亲的 13 个穗部性状进行了比较, 检查各杂种植株的结实率。杂种和亲本凭证标本存于四川农业大学小麦研究所。

表 1 供试材料来源

Table 1 The origins of plant materials used in study

种 Species	编号 Accession No.	2n	染色体组 Genome	来源 Origin
<i>Roegneria grandis</i>		28	SSYY	陕西, 临潼 Lintong, Shanxi
<i>Roegneria kamoji</i>	Y1416	42	SSHYY	四川, 都江堰 Dujiangyan, Sichuan
	Y83017	42	SSHYY	四川, 雅安 Yaan, Sichuan

表 2 亲本及杂种 F_1 减数分裂 MI 构型

Table 2 Chromosome pairing at metaphase I of PMCs in parents and their F_1 hybrids

Parents and hybrids	No. of cells	I	II			Chiasmata per cell (c-value)
			Total	Rings	Roos	
<i>R. grandis</i>	80		14.00 (14)	12.73 (10~14)	1.27 (0~4)	26.73 (0.95)
<i>R. kamoji</i>	95	0.26 (0~2)	20.87 (20~21)	20.41 (19~21)	0.46 (0~2)	41.28 (0.98)
<i>R. kamoji</i> × <i>R. grandis</i>	83	10.26 (7~17)	12.37 (9~14)	8.39 (3~12)	3.98 (1~9)	20.76 (0.74)

2 结果与分析

2.1 属间杂种的产生

将鹅观草的 48 个小花去雄后, 授以大鹅观草的花粉, 获得了 18 粒杂种种子, 杂交结实率为 36.84%。由于杂种种子的胚发育不健全, 而且胚乳在发育过程中往往容易退化, 有 3 个杂种胚进行了胚培养, 结果胚培和天然结实的杂种种子均获得杂种幼苗。杂种 F_1 为多年生, 在四川都江堰南亚热带气候条件下, 很难越夏, 夏季必须移置到冷室内才能避免越夏死亡。杂种 F_1 幼苗经过近 1 个月加光后 (春节前后), 最终有 5 株抽穗开花。

2.2 形态学

通过对鹅观草、大鹅观草及其杂种穗部 13 个性状的统计分析表明, 穗状花序大多数性状介于双亲的形态之间, 但内稃形状、穗轴上毛、外稃及颖上芒较为明显地倾向母本鹅观草; 杂种外稃和颖上出现长短不同程度的芒 (表 3), 这显然是由母本鹅观草传递给了杂种后代。此外, 我们还发现杂种后代分蘖数、再生性明显高于双亲。

2.3 亲本的细胞学与育性

亲本种的花粉母细胞中的染色体数目相对比较稳定, 大鹅观草 $2n=4x=28$, 鹅观草 $2n=6x=42$, 减数分裂时期 95% 以上的细胞在中期 I 是正常的, 形成二价体, 其中多数为环形二价体 (图版 I : a, 表 2) 减数分裂后期 I、后期 II 正常分离, 四分体中出现微核频率极低。c-值介于 0.95~0.98 之间; 花粉可育性在 85% 以上。

2.4 杂种 F_1 的细胞学与育性

所有杂种植株的染色体数均为 $2n=35$ 。花粉母细胞减数分裂中期 I, 平均每个细胞为 10.26 个单价体, 12.37 个二价体, 变化范围为 9~14, 其中以环形为主, 平均每个细胞为 8.39 (3~12), 棒形为 3.98 (1~9), 未观察到有多价体出现 (图版 I : b, c, d; 表 2)。平均每个细胞的交叉数为 20.76, c-值为 0.74 (表 2)。

减数分裂异常现象在后期 I、后期 II 和四分体时期普遍存在。后期 I 平均每个细胞的落后染色体数为 6.28 (3~10), 四分体时期平均每个四分体的微核数为 2.89 (0~7) (图版 I : e, f; 表 2)。杂种的花药发育极不正常, 远较双亲小, 其花粉粒发育明显不饱满、皱缩。花粉可育性和天然结实率均小于 2%。杂种花粉育性和天然结实率很低, 表明杂种后代存在有明显的再生障碍。

表 3 亲本及杂种 F_1 形态状的观测结果和比较 (cm)
Table 3 Comparison of morphological characteristics among *R. grandis*, *R. kamoji* and their F_1 hybrids (cm)

形态性状 Morphological character	<i>R. kamoji</i>	<i>R. kamoji</i> × <i>R. grandis</i>	<i>R. grandis</i>
穗长 Length of spike	20.14 ± 1.28	18.47 ± 1.00	22.06 ± 1.69
每穗小穗数(个) No. of spikelets per spike	20.25 ± 3.31	14.33 ± 0.94	9.50 ± 1.28
小穗长 Length of spike	2.42 ± 0.23	2.12 ± 0.05	3.08 ± 0.05
每小穗小花数(个) No. of florets per spikelet	9.25 ± 0.43	6.00 ± 0.80	4.43 ± 0.49
第一颖长 Length of the 1st glume	0.76 ± 0.07	0.74 ± 0.04	1.23 ± 0.03
第一颖芒长 Length of awn on the 1st glume	0.43 ± 0.16	0.08 ± 0.02	—
第二颖长 Length of 2nd glume	0.65 ± 0.04	0.89 ± 0.02	1.41 ± 0.04
第二颖芒长 Length of awn on the 2nd glume	0.26 ± 0.10	0.09 ± 0.01	—
第一外稃长 Length of the 1st lemma	1.10 ± 0.06	1.20 ± 0.02	1.49 ± 0.09
第一外稃芒长 Length of awn on the 1st lemma	3.83 ± 0.47	1.18 ± 0.08	—
第一内稃长 Length of 1st palea	1.07 ± 0.04	1.05 ± 0.01	0.95 ± 0.04
内稃顶端形状 Form of palea	钝形 obtuse	钝形 obtuse	平截 truncate
穗轴上毛 Hair on rachis	无 Hairless	无 Hairless	有毛 hair

—: 示无芒

3 讨论

杂种在减数分裂期间染色体配对规律,反映了物种间亲缘关系。至于鹅观草与大鹅观草这两个种间亲缘关系如何,尚未见有报道。对该杂种在减数分裂过程中染色体配对行为的观察是为了确定双亲SY染色体组之间的同源性。如果双亲的SY染色体组完全同源,则杂种中期I预计会形成14个二价体和7个单价体。

实际观察表明,鹅观草与大鹅观草的杂种F₁代,平均每细胞二价体数为10.13,c-值为0.74,染色体配对数低于理论值,其表明鹅观草与大鹅观草的SY染色体组在各自的进化过程中已发生细胞遗传学的分化。这与Yang J. L.等^[9]的推测一致。Lu B. R.等^[13]在鹅观草属含SY染色体组的其它物种研究中,也得到类似的结论,即含SY染色体组的物种,地理分布相距愈远,其染色体组同源性越低;反之,则同源性较高。

综合大鹅观草的形态特征及其细胞学研究的结果,按照Baum等^[14,15]对鹅观草属划分的界限,大鹅观草应该是该属中合法的种。

参考文献

- (1) Dewey D R. The genome system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial Triticeae [C]. In: Gustafson J P ed. *Gene Manipulation in Plant Improvement*. Proc 16th Stadler Genet Symp. New York: Plenum Publ Corp, 1984, 209~280
- (2) Kihara H. Genome analysis of *Triticum* and *Aegilops*. [J]. *Cytologia*, 1930, 1: 263~270
- (3) 郭本兆. 中国植物志, 第9卷3分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1987
- (4) 卢宝荣, 顾济, 杨俊良等. 小麦族鹅观草属三种植物的生物系统学研究 [J]. 云南植物研究, 1990, 10 (2): 161~171
- (5) Sakamoto S. Cytogenetic studies in the tribe Triticeae. I. A polyploid plant of *Agropyron tsukushiense* var. *transiens* Ohwi found in a state of nature [J]. *Jap J Genet*, 1964, 39: 393~400
- (6) Sakamoto S, Muramatsu M. Cytogenetic studies in the tribe Triticeae. II. Tetraploid and hexaploid hybrids of *Agropyron* [J]. *Jap J Genet*, 1966, 41 (2): 155~158
- (7) Sakamoto S. Cytogenetic studies on artificial hybrids among *Elymus sibiricus*, *E. dahuricus* and *Agropyron tsukushiense* in tribe Triticeae [J]. *Bot Mag (Tokyo)*, 1982, 95: 375~383
- (8) Zhang X Q, J L Yang, C Yen. The genome constitution of *Roegneria grandis* (Poaceae: Triticeae) [J]. *Pl Syst Evol*, 1998, 209: 67~73
- (9) Yang J L, C Yen. Ecogeographic regions and distribution of related Triticeae in China [C]. Proceeding of the 2nd Intern. Triticeae Symp. Logan, U S A, 1994, 144~146
- (10) Wan Y F, Yen C, Yang J L, Liu H C. The diversity of resources resistance to scab in Triticeae (Poaceae) [J]. *Wheat Information Service*, 1997a, 84: 7~12
- (11) Wan Y F, Yen C, Yang J L, Liu F Q. Evaluation of *Roegneria* for resistance to head scab caused by *Fusarium graminearum* Schwabe [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1997b, 44: 211~215
- (12) Kimber G, Alonso L G. The analysis of meiosis in hybrids. III. Tetraploid Hybrids [J]. *Canad J Genet Cytol*, 1981, 23: 235~254
- (13) Lu B R, Salomon B. Differention of SY genomes in Asiatic *Elymus* [J]. *Hereditas*, 1992, 116: 121~126
- (14) Baum B R, Yen C. J L Yang. *Roegneria*: its generic limits and justification for its recognition [J]. *Can J Bot*, 1991, 69: 282~294
- (15) Baum B R, J L Yang, Yen C. Taxonomic separation of *Kengyilia* (Poaceae: Triticeae) in relation to nearest related *Roegneria*, *Elymus*, and *Agropyron*, based on some morphological characters [J]. *Pl Syst Evol*, 1995, 194: 123~132